(Aus der Universitätskinderklinik Basel [Direktor: Prof. Dr. E. Freudenberg].)

Ueber das Kathepsin des Magensaftes

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

Vorgelegt von

Samuel Buchs

von Winterthur

1940

VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. E. Freudenberg

Tag der Promotion: 14. Mai 1940

Sonderdruck aus «Annales Paediatrici» Vol. 156, No. 1

Buchdruckerei Friedrich Reinhardt AG. in Basel

1. Geschichtliches.

Als zu Beginn des Jahrhunderts mit der Entwicklung der physikalisch-chemischen Forschung die Wirkungsoptima der Fermente festgestellt und gleichzeitig die Konzentration an Wasserstoffionen im Magensaft (MS) des Säuglings bekannt wurden, wurde vielfach die Meinung geäußert, daß es eine Pepsinwirkung im Magenchymus des Säuglings gar nicht geben könne.

Als Beispiel einer solchen Ansicht führen wir das folgende Zitat aus *Michaelis*, «*Die Wasserstoffionenkonzentration*», an:

«Wir können jedenfalls mit Sicherheit sagen, daß ein MS mit pH 3 sehr schlecht und bei pH 4 praktisch gar nicht mehr für die Verdauung des Eiweißes mitwirken kann, geschweige denn die noch niedere Wasserstoffionenkonzentration des Säuglingsmagens (pH 5).»

Im Gegensatz zu dieser Auffassung stellte später *R. Heß* fest, daß ausgeheberter Mageninhalt von Säuglingen, den man, ohne die Azidität zu verändern, im Brutschrank mit Milch der Nachverdauung unterwirft, einen merklichen Zuwachs an Reststickstoff (RN) aufweist, der bis zu 25% betragen kann.

Bei dem damaligen Stande des Wissens schien die Deutung dieses Befundes in der Richtung zu liegen, daß man ihn auf eine Restaktivität des Pepsins zurückführte, welche sich bei großen Ueberschüssen an Pepsin auch außerhalb des Optimums der Wirkung zeigen kann. Damit stimmte überein, daß nur die Kuhmilch bei dieser Nachverdauung einen Zuwachs an RN lieferte, nicht aber Frauenmilch, bei der die Magensekretion bekanntlich viel schwächer ist.

Nach vielen ähnlichen, meist vergeblichen Versuchen mehrerer Forscher gewann das Problem der Verdauung im Säuglingsmagen ein neues Aussehen, als *Willstätter* in der Magenschleimhaut neben dem Pepsin ein zweites Ferment nachweisen konnte, das bei schwach saurer Reaktion tätig ist. Es soll

auf isoelektrisches Eiweiß einwirken, während das Pepsin auf kationische, das Trypsin auf anionische Proteine eingestellt sei.

Diese von ihm als *Kathepsin* bezeichnete Gewebsprotease fand er besonders reichlich in lymphatischen Organen vor und bezeichnete deshalb das lymphatische Gewebe der Magenmucosa als Produktionsstätte dieses Enzyms, das durch auswandernde Leukozyten in den MS gelangen sollte.

Diese Auffassung ließ sich zwar gut mit der pathologisch-anatomisch festgestellten Verdauungsleukozytose der Magenwand in Einklang bringen, müßte jedoch zur Folge haben, daß der MS nur Spuren von Kathepsin enthalten kann, da dessen Gehalt an Leukozyten beim gesunden Menschen nur sehr gering ist.

Da bisher exakte Messungen über den Kathepsingehalt im MS nicht vorlagen, stellten wir solche an. Hierbei sollte namentlich das Mengenverhältnis gegenüber dem Pepsin abgeklärt werden und ferner die Frage der Beziehungen zur Labung eine Bearbeitung erfahren.

2. *Methodik.*

Der von uns verwendete MS wurde auf folgende Weise gewonnen:

Die Kinder bekamen nach der Nachtpause eine Flasche Tee mit 5% Nutromalt zu trinken, 30 Minuten nach Beendigung der Mahlzeit wurde ausgehebert. Gewöhnlich wurden etwa 50 ccm Flüssigkeit erhalten, welcher reichlich Magensekret beigemengt war.

a) *Verdauung:* Die Azidität des MS war wechselnd, sie wurde jedesmal kontrolliert und den Bedingungen des Versuches entsprechend eingestellt. Als Substrat benutzten wir meist Kuhmilch in entfettetem Zustande und brachten sie zum MS in ein Mischungsverhältnis von 5:1. Diese Ansätze wurden mit der notwendigen Menge 2n HCl bis zur Erreichung von pH 4,7, bzw. 2,0 versetzt und sogleich nachher im Thermostaten, bzw. im Wasserbade während einer Stunde bebrütet. Nach dieser Zeit wurden die Versuche durch Zusatz von 20% Trichloressigsäure unterbrochen, die in solcher Menge zugefügt wurde, daß das Volumen 10 ccm betrug. Das klare Filtrat wurde mittels des Mikro-*Kjeldahl*-Verfahrens auf Stickstoff verarbeitet und der erhaltene Wert auf 100 ccm Milch berechnet. Der Leerwert der Ausgangsmaterialien kam vom Versuchswert stets in Abzug.

Sofern Zusätze fremder Stoffe nötig waren, wurde die reaktionsverändernde Wirkung derselben genau beachtet und korrigiert, was bei alkalisierenden Substanzen, wie z. B. Cyankali, Voraussetzung des Gelingens der Versuche war.

Die Einwirkung gasförmiger oder löslicher Gifte auf den MS geschah stets bei definierter Temperatur und Wasserstoffzahl vor dem eigentlichen Hauptversuch.

b) *Labung:* Diese nahmen wir ebenfalls in einem Mischungsverhältnis von 1:5 vor bei einem pH der Milch von zirka 6,0. Bei den Konzentrationsmessungen handelte es sich um die bekannten Verdünnungsreihen $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$ usw. und $^1/_3$, $^1/_6$, $^1/_{12}$ usw., wie sie zu Fermentbestimmungen üblich sind. Der Labwert des MS errechnete sich aus dem Produkte der eben noch labenden Verdünnung mit der Anzahl der gelabten ccm Milch.

3. Das physiologische Verhalten des Kathepsins im Magensaft.

Wir führen im folgenden unsere Messungen an, welche 54 Säuglinge und Kleinkinder bis zur Beendigung des 2. Jahres und 18 ältere Kinder bis zum 16. Jahre umfassen (Tabelle Nr. 1).

Tabelle Nr. 1.

Säuglinge und Kleinkinder vor dem 3. Lebensjahr:

	Nr.	Kongo	Zunahme an RN in mg% bei pH 4,7	pH 2,0	Labwert
*	1	±	24,64	24,36	10
	2	—	36,1	52,6	20
*	3	—	41,44	35,28	160
	4	+	14,00	15,96	20
*	5	±	19,32	14,84	5
	6	+	59,08	59,92	60
*	7	+	31,16	24,08	40
	8	+	31,92	35,00	20
	9	—	19,88	22,40	10
*	10	—	29,96	22,96	10
*	11	—	28,56	25,76	10
	12	±	44,52	61,88	50
	13	+	45,08	50,40	40
	14	±	46,48	54,88	30
	15	—	33,60	37,25	10
*	16	+	52,08	35,00	20
	17	±	30,52	44,24	20
	18	+	50,96	60,76	60
*	19	—	41,16	30,52	20
	20	+	53,76	65,52	
	21	—	50,00	66,70	
	22	—	40,8	49,9	

Nr.	Kongo	Zunahme an RN in mg% bei pH 4,7	pH 2,0	Labwert
23	±	22,5	35,5	
* 24	±	48,8	46,5	
25	—	65,0	95,3	
* 26	—	16,7	13,6	
27	—	22,4	25,0	
28	+	20,4	39,2	
* 29	±	19,1	15,6	
30	±	16,2	25,2	
31	—	19,7	30,4	
32	±	31,5	40,1	
33	+	4,1	13,3	
34	+	6,0	22,7	
35	—	15,5	20,7	
36	+	22,3	26,3	
37	+	28,7	51,5	
38	—	36,4	63,8	
39	—	44,2	51,6	
40	+	48,5	68,6	
41	±	53,8	84,9	
42	±	67,6	93,3	
43	—	20,8	28,6	
44	+	24,7	75,0	
45	+	31,08	48,44	
46	±	73,64	74,76	
47	+	84,56	88,88	60
48	+	70,00	79,24	80
* 49	+	49,28	45,92	30
50	+	106,95	120,12	160
* 51	+	65,52	57,40	40
52	+	41,16	47,60	40
* 53	±	55,44	54,04	35
* 54	—	36,68	36,40	25
	Kinder vom 3.—16. Altersjahr:			
* 55	+	67,76	64,68	60
* 56	+	53,48	34,44	40
57	+	71,96	82,04	100
58	±	37,52	43,40	40

Nr.	Kongo	Zunahme an RN in mg% bei pH 4,7	pH 2,0	Labwert
59	+	157,36	167,72	160
60	+	70,56	87,36	60
61	+	77,00	115,92	160
* 62	+	86,80	84,84	160
63	+	91,64	109,76	160
64	+	75,68	91,28	160
65	+	116,5	142,4	
66	±	42,5	63,2	
67	+	58,3	111,4	
68	+	83,0	134,6	
69	—	110,9	127,8	
70	+	64,7	89,6	
71	—	78,0	115,6	
72	+	102,5	165,9	

Daraus errechnen sich für die zwei Enzyme in Mittelwerten die folgenden Zahlen:

	Mittlerer Pepsinwert	Mittlerer Kathepsinwert
54 Säuglinge	46,5 ± 3,26	27,4 ± 2,07
18 ältere Kinder	99,2 ± 8,90	78,1 ± 6,67

Die Werte für Säuglinge sind dank der genügend großen Anzahl der Untersuchungen einwandfrei. Wie ersichtlich ist, übertrifft der Unterschied zwischen Pepsin und Kathepsin weitaus den dreifachen mittleren Fehler.

Bei den 18 älteren Kindern hingegen sind die Ergebnisse nicht von der gleichen Sicherheit.

Bei den Säuglingen beträgt der Kathepsinwert mit unserer Methodik rund 60% des Pepsinwertes, bei den älteren Kindern steigt er im Durchschnitt auf annähernd 80% desselben an.

Berücksichtigt man individuelle Werte, so bewegt sich der Kathepsinumsatz bei den MS zwischen 50 und 100% des Pepsinumsatzes, meist aber zwischen 60 und 80%. Dies bedeutet eine ganz erhebliche Beteiligung des Kathepsins an der Proteolyse im Magen, zumal die Aziditätsverhältnisse beim Säugling und Kleinkind der Kathepsintätigkeit vollkommen adäquat sind.

Daß die Wirkung bei pH 4,7 nicht eine Restwirkung des

Pepsins sein kann, geht schon daraus hervor, daß es MS gibt, bei welchen der Kathepsinumsatz den des Pepsins erreicht oder gar übertrifft. Die Tabelle Nr. 1 weist 18 derartiger Fälle auf (mit * bezeichnet).

Wir ziehen deshalb aus unseren Beobachtungen den Schluß, daß die Proteolyse im Magen des Säuglings vorwiegend auf das Kathepsin des Magensaftes zurückzuführen ist.

4. Aktivierung des Kathepsins.

Vergleicht man die Spaltungsgeschwindigkeit eines MS bei pH 4,7 und 37° C mit derjenigen bei ca. 60°, so ergibt sich eine bedeutende Beschleunigung des Umsatzes bei der höheren Temperatur (Abb. 1, gestrichelte Kurve). Diese liegt in einem Bereich, bei dem viele — wenn auch nicht alle — tierischen Fermente bereits Schädigungen erleiden.

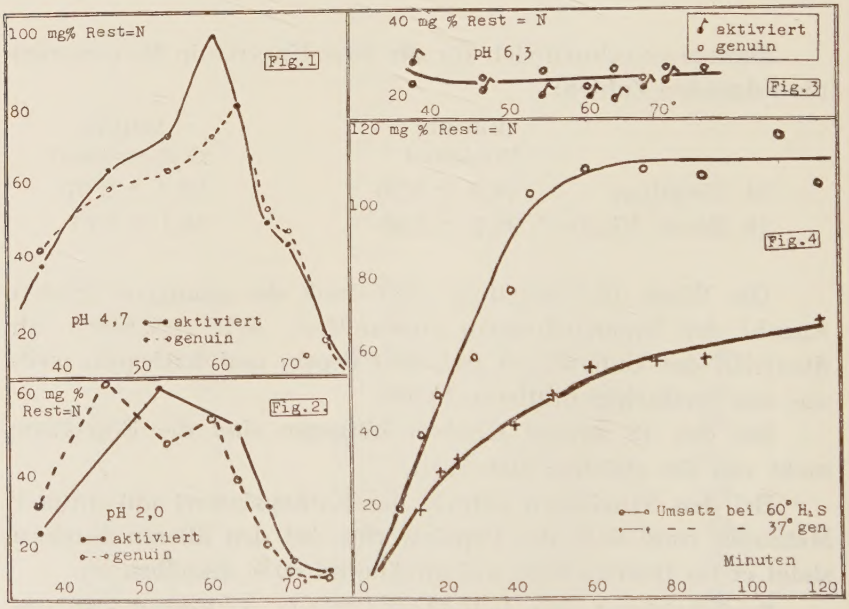

Abb. 1—3.

Temperaturaktivitätskurven eines 10 Monate alten Kindes bei pH 4,7, 2,0 und 6,3. Gestrichelte Kurven: genuiner MS. Ausgezogene Kurven: mit H_2S aktivierter MS.

Abb. 4.

Zeit-Umsatzkurven desselben MS eines 8 Monate alten Kindes bei pH = 4,7 in genuinem Zustande bei 37° (— + — + —) und in mit H_2S aktiviertem Zustande bei 60° (— O — O —).

In den Abb. 1 und 2 ist der Umsatz in einer Temperaturskala von 30—80° variiert wiedergegeben. Das Optimum des Kathepsins bei 63° tritt scharf hervor, während beim Pepsin bei der gleichen Temperatur schon eine Abnahme der Wirkung zu konstatieren ist. Der verwendete MS ist in den Untersuchungen, die den Abb. 1 und 2 zugrunde liegen, ein und derselbe. Man erkennt, daß der Umsatz des Kathepsins bei 63° rund doppelt so groß wird wie der des Pepsins.

Betrachtet man den Umsatz unter optimalen Bedingungen als Definition der Fermentmenge, so fällt auf, daß der MS mehr Kathepsin als Pepsin enthält, denn der Umsatz des Kathepsins bei 60° ist höher als der des Pepsins bei 45°. Unter physiologischen Verhältnissen überwiegt aber fast immer die Pepsinwirkung, außer bei so niedrigen Aziditätsstufen, wie sie im Säuglingsalter vorliegen.

Bei pH 6,3 wird die Kathepsinwirkung sehr gering, der Temperatureffekt fehlt völlig (Abb. 3).

Das Temperaturverhalten wird besonders deutlich, wenn man die relativen Umsatzgrößen zugrunde legt und das Maximum = 100 setzt:

Tabelle Nr. 2.

Temperaturabhängigkeit der relativen Umsatzgrößen des Magensaftes bei:

	40°	45°	50°	60°	70°	75°
Pepsin	71	*100*	92	84	48	18
Kathepsin	46	60	67	*100*	42	18

Die Aktivierung des MS durch Erhitzen kann potenziert werden durch Vorbehandeln mit Schwefelwasserstoff (Abb. 1 und 4, ausgezogene Kurven). Sie erstreckt sich bei pH 4,7 über ein Temperaturintervall von 40 bis 63°, fehlt aber bei pH 2,0 und 6,3. (Abb. 2 und 3, ausgezogene Kurven.) Hieraus schließen wir, daß bei diesen Reaktionen eine wirksame Kathepsintätigkeit nicht mehr besteht.

Die beobachtete Wirkungssteigerung bei 60° beruht auf Umsatzsteigerung. Unterwirft man nämlich den MS ohne Zusatz eines Substrates bei verschiedenem pH einer 10 Minuten dauernden Erwärmung auf 60° und läßt ihn dann bei 37° verdauen, so ist die Kathepsinwirkung nicht stärker als die Pepsinwirkung.

Doch ist der Umsatz bei schwach saurer Reaktion innerhalb der Kathepsinkurve immer noch höher als beim nicht erhitzten MS. Bei stark saurer, neutraler und alkalischer Reaktion wird das Enzym sogar geschädigt.

Tabelle Nr. 3.

pH-Stufen, bei denen 10 Minuten lang auf 60° erhitzt wurde:

pH =	1,5	3	4	6	7	8
Pepsin	8,1	46,3	27,5	27,8	0	1,1
Kathepsin	11,5	37,5	18,8	24,4	6,6	0
P : K	1 : 1,4	1 : 0,8	1 : 0,7	1 : 0,9	—	—

Der in der Stufe pH 3 verwendete MS war ein anderer als in den übrigen Proben, die absolute Höhe des Umsatzes besagt hier also nichts. Die wichtige Proportion P : K zeigt jedoch zwischen pH 3 und 6 keine ausgesprochene Veränderung, womit unsere obige Behauptung belegt ist. Bei pH 1,5 sind beide Enzyme geschädigt, das Pepsin aber stärker als das Kathepsin.

5. Giftwirkungen.

Ein und derselbe MS wurde vor dem eigentlichen Hauptversuch bei pH 2,5 und Zimmertemperatur 30 Minuten lang der Einwirkung der in Tabelle Nr. 4 aufgezählten Gifte unterworfen. Stets reagierten 10 mg Gift in 1 ccm MS. Substrat war wieder entfettete Milch, Verdauungsansätze wie üblich.

Tabelle Nr. 4.

Gift	Pepsin	Kathepsin	Quotient P:K
—	65,5	53,8	1 : 0,8
$CuSO_4$	73,9	63,0	1 : 0,85
Pb-Azetat	48,7	35,8	1 : 0,7
$FeCl_3$	60,2	49,3	1 : 0,8
Uranylazetat	49,3	46,8	1 : 0,95
$FeSO_4$	43,4	42,8	1 : 0,95
$CsNO_3$	59,1	60,5	1 : 1
$AgNO_3$	47,9	60,8	1 : 1,3
$MnCl_2$	45,5	67,8	1 : 1,5
$BaCl_2$	32,8	47,7	1 : 1,5
$HgCl_2$	14,3	33,9	1 : 2,4
$AuCl_3$	0	2,8	—
As_2O_3	0	6,5	—

Dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß die verschiedenen Gifte z. T. gleichsinnig, z. T. entgegengesetzt an den beiden Fermenten angreifen. So wirken Gold, Arsen, Uran, $FeSO_4$ mehr oder weniger hemmend. $CuSO_4$ fördernd ein. Auf der anderen Seite schädigt Blei mehr das Kathepsin, $AgNO_3$, $HgCl_2$, $BaCl_2$ und $MnCl_2$ mehr das Pepsin, so daß sich der Quotient P : K zugunsten des Kathepsins verschiebt, beim Sublimat bis auf 1 : 2,4.

Ein Versuch mit Kalomel ergab überhaupt keine Einwirkung auf die beiden Proteasen.

Diese gegenteilige Beeinflussung der Enzyme spricht deutlich für einen Angriffspunkt der Metalle an den beiden Fermenten selbst und gegen eine indirekte Beeinflussung der Proteolyse mittels Einwirkung auf das Substrat.

Im folgenden seien einige organische Gifte angeführt, welche wir ebenfalls 30 Minuten lang und bei pH 2,4 mit Magensäften jeweils einheitlicher Herkunft zusammenbrachten.

Tabelle Nr. 5.

Gift	Pepsin	Kathepsin	Quotient P : K
—	30,4	21,9	1 : 0,72
Aethylalkohol 9,5%	25,3	22,8	1 : 0,9
Methylalkohol 10%	28,6	33,9	1 : 1,19
Amylalkohol 2%	28,9	22,2	1 : 0,77
Azeton 10%	24,1	22,8	1 : 0,95
Chloroform 2%	26,4	23,9	1 : 0,9
Formaldehyd 4%	28,7	20,5	1 : 0,72
—	39,5	29,8	1 : 0,75
Azeton 20%	37,9	32,3	1 : 0,85
Methylalkohol 20%	34,5	32,0	1 : 0,95
KCN 20 mg	36,8	42,9	1 : 1,17
—	59,1	60,6	1 : 1
KCN bei 60°	28,1	25,3	1 : 0,9
—	55,4	69,4	1 : 1,25
KCN bei 60°	16,0	11,2	1 : 0,66

Mit Ausnahme des Amylalkohols hemmen die Alkohole und Azeton deutlich die Tätigkeit des Pepsins, resp. fördern das Kathepsin, so daß sich der Quotient zugunsten des letzteren verändert. Formaldehyd 4% ist indifferent.

Eine Aktivierung des Kathepsins konnten wir in mehreren Versuchen auch mit Blausäure erreichen, doch gilt diese nur für das Temperaturbereich um 37°. Führt man nämlich denselben Versuch bei 60° durch, so findet man im Gegensatz zu den Experimenten mit Schwefelwasserstoff eine auffallend starke Hemmung des Kathepsins. Die Verhältnisse der Blausäureaktivierung sind also grundsätzlich andere als die der Förderung durch H_2S.

6. Versuche zur Trennung des Pepsins und Kathepsins im Magensaft.

Für die Trennung der beiden Enzyme wurden verschiedene Fällungsmethoden mittels Azeton und Alkohol bei variiertem pH versucht. Sie ließen sich aber auf diese Weise nicht isolieren, da sie stets zusammen ausflockten.

Weitere Versuche, eine Trennung durch Aussalzen mit Na_2SO_4 zu erreichen — ebenfalls bei verschiedenem pH —, hatten das gleiche negative Ergebnis.

Als dritte Methode kamen Adsorptionen in Frage, von denen die mit Cholesterin das beste Resultat lieferte, während Kohle und Safranin eher versagten.

Cholesterin schlägt bei pH 2 das Pepsin mehr oder minder nieder, während das Kathepsin zum größten Teil in Lösung bleibt. Bei pH 3—4 wird vom Cholesterin immer auch ein Teil des Kathepsins gefällt, ohne daß sich der Quotient dabei verändert. Bei pH 1,5 leiden beide Fermente.

Wir gingen so vor, daß wir das Cholesterin in warmem Azeton lösten und in einem Mengenverhältnis von 1% (auf den MS berechnet) unter Umschütteln zusetzten. Von dem sich bildenden Niederschlag wurde abzentrifugiert, das Azeton mit Luft ausgetrieben und das in der Lösung verbleibende Ferment wie üblich nachgewiesen.

Die Ergebnisse waren nicht konstant. Während wir in einigen Fällen Verschiebungen des Quotienten P :K bis 1 : 8 erreichen konnten, gelang uns in anderen Versuchen nur eine Veränderung von 1 : 0,6 bis 1 : 1.

7. Substrate des Kathepsins.

Bei der Prüfung der spezifischen Verdauung erhielten wir Umsätze mit:

Casein
Lactalbumin und
Eieralbumin.

Gegenüber Pepton *Witte* ergab sich bei Titration in 95% Alkohol überhaupt kein Umsatz. Auch Zusatz von KCN war diesbezüglich ohne Einfluß.

Ferner untersuchten wir die Dipeptide
Diglycylglycin
Alanylglycin und
Chloracetyltyrosin.

Bei keinem dieser Substrate ergab sich nach der Verdauung eine Titrationsdifferenz gegenüber vorher.

Aus diesen Befunden folgern wir, daß das Kathepsin des MS gleich wie das Pepsin nur genuine Proteine anzugreifen vermag. Beide leiten die Verdauung ein und machen am gleichen Punkte halt.

8. Pepsin, Kathepsin und Labeffekt.

Fast die Hälfte der in Tabelle Nr. 1 aufgeführten MS wurde gleichzeitig neben der Verdauung auf ihre labenden Eigenschaften geprüft. Dabei erwies sich das Zeitgesetz, dem das Chymosin folgt und wonach das Produkt aus Zeit und Fermentmenge konstant ist, als ungültig. Mit anderen Worten:

Ein echtes Chymosin kann im Säuglingsmagensaft nicht oder nur in vernachlässigenswerten Mengen vorhanden sein.

Aus der Zeitkurve der Labung geht hervor, daß nach 5—10 Minuten die erste Hälfte und nach weiteren 10 Minuten ungefähr zwei Drittel des Labstundenwertes erreicht sind, das restliche Drittel folgt im Verlaufe der nächsten 40 Minuten nach (Tabelle Nr. 6).

Tabelle Nr. 6.

Zeit	Labwert	
	1. Versuch	2. Versuch
Nach 5 Minuten	15	20
10	20	30
15	20	40
30	30	60
60	40	60

Eine isolierte Labung durch Kathepsin wurde ermöglicht durch Ansetzen der Versuche im heißen Wasserbad mit genuinem MS einerseits und mit durch H_2S aktiviertem anderseits, beide in der gleichen Verdünnung und beim gleichen pH von 6,0.

Während der Pepsin-Parachymosin-Komplex im unveränderten MS durch die Hitze so stark geschädigt wird, daß die Labung ab 60° sistiert, labt der aktivierte MS nach einer Unterbrechung zwischen 45 und 60° wieder im Bereiche zwischen 63 und 70°. Der effektive Labwert war dabei stets sehr gering, doch läßt gerade diese verminderte Wirkung des doppelt aktivierten Fermentes eine erhebliche Labwirkung des Kathepsins im genuinen MS von vorneherein ausschließen. Auch Aktivierungsversuche mit H_2S bei 37° sind auf den Labwert völlig einflußlos.

Aus allen diesen Gründen führen wir die stürmisch einsetzende und langsam verebbende Labung in der Hauptsache auf den Pepsin-Parachymosin-Komplex zurück und nicht auf die nur unspezifisch labende Nebenkomponente des Kathepsins, auf eine Eigenschaft, die jeder Protease zukommt.

Zusammenfassung.

Es wurde versucht, eine befriedigende Erklärung für die Eiweißverdauung im Säuglingsmagen zu geben, da dessen niedrige Wasserstoffionenkonzentration eine erhebliche Tätigkeit des Pepsins ausschließt.

An Hand zahlreicher Versuche an über 80 Magensäften wurde ein zweites, stark wirksames proteolytisches Ferment, wenn auch nicht vollständig isoliert, so doch mit Sicherheit nachgewiesen, das

1. genuine Proteine zu Polypeptiden abbaut,
2. in jedem Lebensalter vorkommt,
3. in der Aziditätsreihe ein Optimum bei pH 4,7 und
4. in der Temperaturskala ein solches bei 60° C besitzt,
5. durch H_2S, HCN und $MnCl_2$ in seiner Tätigkeit stark gefördert wird,
6. durch Adsorptionsverfahren, vornehmlich mittels Cholesterin, vom Pepsin mehr oder weniger abgetrennt werden kann.

Aus all diesen Tatsachen ergibt sich, daß das oben beschriebene Ferment des Magensaftes zu den *Kathepsinen Willstätters* und damit in die große Gruppe der *Papainasen* gehört.

Ferner konnte gezeigt werden, daß die Labung im Säuglingsmagen gleich wie beim Erwachsenen wahrscheinlich das Werk des Pepsin-Parachymosinkomplexes ist und daß das Kathepsin bei der Labung nur eine untergeordnete Rolle spielt.

Für die Existenz des Chymosins fanden sich keinerlei Anhaltspunkte.

Summary.

It was tried to give a satisfactory explanation for the protein digestion in infants' stomachs whose acidity excludes a sufficient activity of pepsin. By experiments on more than 80 gastric juices of different children we were able to demonstrate the presence of a second very active proteolytic enzym which has the following qualities:

1. genuin proteins are split into polypeptids,
2. this ferment can be found during the whole of human life,
3. it has an optimum of acidity near pH 4.7,
4. it has an optimum of temperature near 60° Celsius,
5. its action is improved by H_2S, KCN and $MnCl_2$,
6. we were able to separate it from pepsin to a certain degree using the method of adsorption by cholesterol.

This gastric enzym belongs to the group of *Willstätter*'s "Kathepsins" and to the large family of "papainases".

Curdling of milk in stomach is effected—if not by hydrochloric acid—by the pepsin-parachymosin, not by the Kathepsin of gastric juice. There is no true "chymosin" in infancy neither in adult life.

Résumé.

L'auteur a tenté de fournir une explication satisfaisante de la digestion des albumines dans l'estomac des nourrissons, car la faible concentration en ions hydrogène empêche une activité notable de la pepsine.

De nombreuses expériences sur plus de 80 sucs gastriques ont permis de mettre en évidence avec certitude un deuxième ferment protéolytique très actif qui n'a pas pu être encore isolé complètement et qui a les caractères suivants :

1° il décompose les protéines en polypeptides,
2° il existe à chaque période de la vie,
3° son action est optimum pour un pH de 4,7, et
4° pour une température de 60° C.,
5° il est stimulé fortement par H_2S, HCN et $MnCl_2$,
6° on peut le séparer plus ou moins bien de la pepsine par adsorption, de préférence avec la cholestérine.

De tous ces faits il ressort que ce ferment du suc gastrique est un parent des cathepsines de *Willstätter* et appartient au grand groupe des *papaïnases.*

En outre on a pu montrer que dans l'estomac des nourrissons comme chez l'adulte l'action de la présure est l'œuvre du complexe pepsine-parachymosine et que la cathepsine ne joue qu'un rôle de second plan.

Finalement, on n'a pas réussi à déceler la présence de la chymosine.

Literatur.

Brock J., Biolog. Daten für den Kinderarzt, Berlin, 1932. — *Budde O.*, Ztschr. f. Kinderhlkd., 47, 486 (1929). — *Freudenberg E.*, Physiologie und Pathologie der Verdauung im Säuglingsalter, Berlin, 1929. — *Freudenberg E.* und *Buchs S.*, Ueber die zweite Protease des Magensaftes, das Kathepsin, Schweizerische Medizinische Wochenschrift Nr. 12, 1940. — *György P.*, Ernährung des gesunden Säuglings, in Handbuch der Kinderhlkd. von *Pfaundler* und *Schloßmann*, Bd. I, Berlin, 1931. — *Heß R.*, Mtschr. f. Kinderhlkd., 36, 208 (1928). — *Michaelis L.*, Die Wasserstoffionenkonzentration, Berlin, 1914. — *Oppenheimer C.*, Die Fermente und ihre Wirkungen. Bd. II. Leipzig, 1926; Supplement, Bd. I, 1936. — *Rona P.*, Praktikum der Physiolog. Chemie, Berlin, 1926. — *Willstätter R.* und Mitarbeiter: Untersuchungen über Enzyme. Berlin, 1928.